

Aus dem Institut für Parasitologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. J. Boch

EINFLUSS VON TEMPERATUR UND LARVALER FASCIOLA
HEPATICA-INFEKTION AUF DIE ZWERGSCHLAMMSCHNECKE
GALBA (L.) TRUNCATULA M.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Axel Barrach
Tierarzt aus Cottbus
Berlin 1972

Aus dem Institut für Parasitologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. J. Boch

EINFLUSS VON TEMPERATUR UND LARVALER FASCIOLA
HEPATICA-INFEKTION AUF DIE ZWERGSCHLAMMSCHNECKE
GALBA (L.) TRUNCATULA M.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Axel Barrach
Tierarzt aus Cottbus
Berlin 1972



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Vorsitzender:	Prof. Dr. J. Boch
Referent:	Prof. Dr. F. Hörchner
Korreferent:	Prof. Dr. J. Boch

Tag der Promotion: 14. Februar 1972

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturbesprechung	
A) Ökologie und Biologie der Zwergschlammschnecke <i>Galba truncatula</i> unter natürlichen Verhältnissen und Laborbedingungen	2
B) Die larvale Entwicklung von <i>Fasciola hepatica</i> im Zwischenwirt	6
C) Beeinflussung der Schnecke <i>Galba truncatula</i> durch die larvale <i>Fasciola hepatica</i> -Infektion und äußere Umwelteinflüsse (z.B. Temperatur) ...	10
III. Eigene Untersuchungen	
A) Material und Methodik	13
B) Ergebnisse	
a) Experimentelle Infektion von <i>Galba truncatula</i> mit Miracidien von <i>Fasciola hepatica</i>	18
b) Der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Überlebensfähigkeit von mit <i>Fasciola</i> <i>hepatica</i> infizierten <i>Galba truncatula</i>	19
c) Einfluß der Infektionsdosis (Anzahl der Miracidien) auf <i>G. truncatula</i>	22
d) Entwicklungsrate der in <i>Galba truncatula</i> eindringenden Miracidien zu Sporozysten	23
IV. Besprechung der Ergebnisse	27
V. Zusammenfassung und Summary	29
VI. Literaturverzeichnis	31

Lebenslauf

I. Einleitung

In der Epizootologie des großen Leberegels *Fasciola hepatica*, der als Parasit, besonders in der Rinderhaltung, von großer wirtschaftlicher Bedeutung ist, spielt die Zwergschlamm-schnecke *Galba truncatula* die entscheidende Rolle als Zwischenwirt in Mitteleuropa.

In ihrem natürlichen Biotop wird die Lebensfähigkeit der Schnecke unter anderem durch verschiedene Umweltfaktoren, wie Trockenheit und tiefe Temperaturen, beeinflusst. Gleichzeitig kann der Befall mit larvalen Trematoden neben einer erhöhten Mortalität eine Entwicklungshemmung oder ein Absinken der Reproduktionsrate der Schnecken bedingen. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, den Einfluß verschiedener Temperaturen und der Höhe der Infektionsdosis mit Larvenstadien von *Fasciola hepatica* auf Zwergschlamm-schnecken unter Laborbedingungen zu ermitteln.

II. Literaturbesprechung

A. Ökologie und Biologie der Zwergschlammschnecke *Galba truncatula* unter natürlichen Verhältnissen und Laborbedingungen

Die Zwergschlammschnecke *Galba truncatula* aus der Familie der Lymnaeidae ist eine amphibisch lebende Lungenschnecke, die in Deutschland allgemein verbreitet ist. Sie wird vorwiegend in flachen stehenden Gewässern, Gräben und Tümpeln, besonders an der Gewässer-Ufergrenze gefunden, aber auch in wassergefüllten Rad- oder Klauenspuren (KASTAK, 1957). Meist handelt es sich um kleine und kleinste Wasseransammlungen, deren Wasserstand sehr starken jahreszeitlichen Schwankungen, in Abhängigkeit von den anfallenden Niederschlagsmengen, ausgesetzt ist (HOHORST, 1969). Es genügt aber auch ein feuchter Boden.

Von allen Bodenarten ist der schwere Lössboden der am besten geeignete für das Wachstum und die Entwicklung der Schnecken, da hier das Wasser bzw. die Feuchtigkeit gut gehalten wird. (TAYLOR, 1964). In Moorengebieten sind sie nicht zu finden auf Grund des ungünstigen sauren pH-Wertes des umgebenden Milieus, denn die optimalen Wasserverhältnisse für *Galba truncatula* liegen im schwach basischen Bereich (6,8-7,8 pH). Nach KASTAK (1960) ist 6,4 pH schon ziemlich die unterste Grenze. Die idealen Lebensbedingungen sind scheinbar am Übergang vom kahlen Schlammufer zur Flora von Gras und Moos zu finden (KENDALL, 1953). Die häufigste Besiedlungsart neuer Biotope ist die Verschwemmung von Schnecken und deren Eigelege bei Hochwasser (HOHORST, 1969), aber auch durch Vögel und Wasserkäfer.

An anderen Lymnaeidenarten, die mit *Galba truncatula* am gleichen Fundort vergesellschaftet sind, und die als mögliche Alternative in Frage kommen, fand HOHORST (1969) im Bereich des Mains *Radix peregra*, *Galba palustris* und gelegentlich *Galba glabra* und *Lymnaea stagnalis*.

Die Zwergschlammschnecke kann unter günstigsten Lebensbedingungen bis zu 13,5 mm groß werden. Ihr Gehäuse hat 5-5 1/2 stark gewölbte und stufig voneinander abgesetzte, rechtsdrehende Windungen. Die Nahrung besteht in erster Linie aus Mikroalgen, daneben auch aus frischen und faulenden Pflanzenteilen und tierischem Eiweiß (KILIAS und FRICK, 1963). *G. truncatula* ist ein Zwitter und kann sich, wenn durch Isolation gezwungen, selbst befruchten (KENDALL, 1953). Ihre Hauptlaichzeiten, bei entsprechenden Temperatur- und Wasserbedingungen, sind unter europäischen Verhältnissen in der Außenwelt die Monate April-Mai, sie können aber auch von Februar bis November dauern (KILIAS und FRICK, 1963). Die Eiablage erfolgt zumeist im Schlamm der Gewässer-Ufergrenze. Es können in dem maximal 16-24monatigen Leben bis zu optimal 3000 Eier in Ballen zu je 12-20 Stück gelegt werden (FRÖMMING, 1956). Diese gallertartigen Ballen sind rund-oval und haben einen Durchmesser von 5-6 mm. Bei Temperaturen unter 9° C erfolgt keine Eiablage mehr (TAYLOR, 1964).

Die Embryonalentwicklung ist, nach KILIAS und FRICK (1963), ebenfalls stark von der Umwelttemperatur abhängig. Sie beträgt gewöhnlich bei Sommertemperaturen 2-4 Wochen. Jungschnecken, die aus den während der Hauptlaichzeit abgelegten Eiballen geschlüpft sind, werden unter natürlichen Umwelteinflüssen im Frühjahr nach 3-4 Monaten geschlechtsreif und können sich schon im August oder September weiter vermehren.

Witterungsfaktoren, wie Trockenheit und Kälte, beeinflussen die Lebensfähigkeit der Schnecken und ihrer Gelege. Nach HOHORST (1969) trocknen die Fundorte von *G. truncatula*, witterungsbedingt und auf Grund ihrer oft geringen Größe, gelegentlich völlig aus. Daher wechselt die Besiedlungsdichte der Schnecken ständig. Laut KENDALL (1949 a) zeigen Freilandbeobachtungen, daß *G. truncatula* die Trockenzeit unter einer Oberflächenkruste aus Schlamm am Boden des ausgetrockneten Tümpels verbringt, der in nassen Monaten des Jahres ihr Lebensraum war. In dieser Trockenzeit erfolgt keine Reproduktion. Erdproben und Grassoden aus

ausgetrockneten Lebensräumen beinhalten häufig lebensfähige Schnecken, die erst nach einer 24stündigen Bewässerung wieder aktiv werden und hervorkommen. Das ist eine Möglichkeit, während der trockenen oder kalten Saison die Existenz von *G. truncatula* nachzuweisen in Gegenden, in denen sie trotz sorgfältiger Suche an der Oberfläche nicht gefunden wurde.

Im Winter bleibt *G. truncatula* in der Natur aktiv, solange der Boden feucht ist. Mit sinkender Temperatur sucht sie ihre Winterplätze auf, die außerhalb des Wasserreservoirs auf dem umliegenden Gelände liegen (BEDNARZ, 1960). Nahrungsaufnahme und Stoffwechsel funktionieren nur langsam, bis sie bei 0°C eingestellt werden (TAYLOR, 1964). Gegenüber Frost ist die Schnecke ziemlich widerstandsfähig. So berichtet FRÖMMING (1956), daß *G. truncatula* im feuchten Schlamm vergraben, an geschützten Orten bei Außentemperaturen von -8°C noch über mehrere Monate am Leben bleiben kann.

TAYLOR und MOZLEY beschrieben 1948 eine Kultivierungsmethode unter Laborbedingungen von *G. truncatula*, die im wesentlichen in der Nachahmung des natürlichen Biotops der Schnecke in unglasierten Ton- oder Glasschalen besteht. Jedes Gefäß enthält einen kleinen "Wassertümpel" und schlammige Uferzonen, auf denen Grünalgen wachsen, die bekanntlich das Hauptfutter der Schnecken bilden. Die Schnecken müssen aber häufig in neue gleichartige Kulturkästen umgesetzt werden, damit immer genügend Grünalgen zur Verfügung stehen.

KENDALL (1953) fand heraus, daß unter experimentellen Bedingungen eine Legetätigkeit noch bei $10-11^{\circ}\text{C}$ erfolgt, jedoch die Wachstumstemperatur für Mikroalgen höher liegt, von deren Vorhandensein eine günstige Reproduktionsrate abhängig ist. Im Labor kommt es zweifellos zur höchsten Eiproduktion bei guter Versorgung mit Algenfutter, guter Beleuchtung und vergleichsweise hoher Feuchtigkeit und Wärme. Die Mikroalgen können durch Kunstfutter oder Algen ersetzt werden, die auf Nährböden gezüchtet wurden.

Im Labor findet die Eiablage während des ganzen Jahres statt, obwohl sie am meisten in den warmen Monaten erfolgt.

Die Jungschnecken schlüpfen im Labor bei 25° C nach 8-10 Tagen (ROBERTS, 1950), wogegen nach FRÖMMING (1956) und KENDALL (1953) derartige Temperaturen von 25° C bereits destruktiv auf die Eigelege wirken.

Nach dem Schlupf können die Jungschnecken je nach Nahrungsangebot und bei optimalen Temperaturen innerhalb von 23 Tagen eine Gehäusegröße von 4,8-5,0 mm, die Geschlechtsreife schon nach 3 Wochen erreichen. Danach sinkt die Wachstumsgeschwindigkeit und hört erst kurz vor dem Tode der Schnecke auf. So soll *G. truncatula* bis zum 9. Tage wachsen und bis zum 24. Tage vor ihrem Tode Eier legen (KENDALL, 1953).

Voll erwachsene Schnecken erreichen gewöhnlich nur im Labor eine Gehäuselänge von 12-13 mm, eine Größe, die kaum in der Natur, wenn überhaupt jemals erreicht wird.

Auch unter Laborbedingungen hat man die Resistenz gegenüber Trockenheit häufiger bei Jungtieren und erwachsenen Schnecken, weniger bei den Eigelegen beobachtet. Demnach kann ein hoher Prozentsatz der Schnecken unter günstigen Umweltbedingungen ohne Befeuchtung ca. ein Jahr "übersommern" mit an die Schlammoberfläche angehefteter Öffnung, manchmal auch tiefer im Schlamm eingegraben (KENDALL, 1949a). Sogar frisch geschlüpfte Schnecken sind laut FRÖMMING (1956) bemerkenswert trockenresistent, da sie bis zu 2 Monaten auf hartem Schlamm bei trockenen Luftverhältnissen im Labor überleben, ältere Tiere entsprechend noch längere Zeiten. Im Gegensatz dazu stehen aber die Ergebnisse von ROBERTS (1950), wonach frisch geschlüpfte Schnecken Trockenheit nicht länger als 4 Stunden überleben. Erwachsene *G. truncatula* können sie nicht länger als 15 Tage bei Temperaturen von 17° C im Labor aushalten, in der Natur jedoch länger. MEHL (1932) dagegen gibt eine Überlebenszeit im trockenen Schlamm von 4 1/2 Monaten an.

B. Die larvale Entwicklung von Fasciola hepatica im Zwischenwirt

Die mit dem Kot ausgeschiedenen Eier des großen Leberegels, *Fasciola hepatica*, bleiben in feuchten Kotmassen zwar mehrere Monate lebensfähig, es findet aber keine Entwicklung statt. Die Embryonierung zum Miracidium erfolgt erst nach Ausschwemmung der Eier (z.B. durch Regen) aus dem Kot und in Abhängigkeit von der Temperatur in 12-22 Tagen. Unter 10° und über 37° C läuft keine Entwicklung in den Eiern ab (OLLERENSHAW, 1966), jedoch verzögern tiefe Temperaturen lediglich die Embryonalentwicklung. Sie dauert bei Temperaturen von 10° C 23 Wochen und unter natürlichen Bedingungen bei $15,1^{\circ}$ C mindestens 56 Tage (HOVORKA, 1960).

Während der gesamten Periode der Entwicklung sind außerdem genügend Sauerstoff und ein Oberflächenfilm von Feuchtigkeit auf dem Ei notwendig (TAYLOR, 1964).

Der Schlupfvorgang des Miracidiums ist komplex und wird durch einen Reiz (z.B. Licht) eingeleitet. Ein im Ei gebildetes Schlupfenzym wirkt dehydrierend auf den Deckelsaum, wodurch es zur Permeabilitätssteigerung kommt. Dabei dehnt sich ein im Ei befindliches "Kissen" kolloidalen Materials auf Grund der osmotischen Vorgänge aus. Sein Inhalt wandelt sich vom Gel in den Solzustand um (ROWAN, 1957). Die Permeabilitätssteigerungen führen damit zur schlupfauslösenden Druckerhöhung und der Deckelsprengung (WILSON, 1968). Nach dem Schlupf bewegen sich die Miracidien im Wasser mit Hilfe von Cilien und ^{durch} Längsrotation vorwärts. Sie "wittern" die Schnecken chemotaktisch über Entfernungen von 15 cm (NEUHAUS, 1953). Beim Auffinden der Schneckenwirte helfen ebenfalls phototaktische Faktoren (Sonnenlicht), da die Mollusken nur in flachen, gut durchsonnten Uferzonen zu finden sind (TAYLOR, 1964). Die Miracidien versuchen, sich überall an den äußeren Weichteilen der Schnecke einzubohren. Der günstigste Platz ist aber die Region der Atmungsöffnung (PANTELOURIS, 1965). Nach ESCUDERO DIEZ (1971) jedoch gibt es keine Prädispositionsstelle für das Eindringen der Flimmerlarven. Scheinbar sei jeder Weichteilbereich günstig zum Durchdringen. Er konnte keine Gewebeteile mit gehäuften oder geringen Ansammlungen von Leberegellarvenstadien finden.

Das Eindringen der Miracidien in die Schnecke erfolgt durch enzymatische Andauung des Epithels mittels Fermentausscheidungen aus der apikalen Drüse (DAWES, 1960). Dafür benötigt die Leberegellarve ca. 30 Minuten (WILSON, 1970). Wenn die Leberegellarve mit der Vorderpapille die subepiderme Schicht der Schnecke durchdrungen hat, lösen sich die Zellen ihres Ciliarepithels, die einem Prozess der Vakuolisierung unterliegen. Das Schneckenepithel an der Durchtrittsstelle wird nicht regeneriert, sondern gleich nach dem Eindringen der Miracidien, begünstigt durch Gewebskontraktionen, "repariert" (ESCUDERO DIEZ, 1971). Miracidien, die weiches Schneckengewebe durchbohren, entwickeln sich weiter (PANTELOURIS, 1965). Nach dem Eintritt in die Schnecke ist die Larve nur noch halb so groß wie das Miracidium und bekommt eine runde Form. Von nun an wird sie auch junge Sporozyste genannt. ROBERTS (1950) stellte schon 90 min. p.i. eine solche fest.

Ein Einbohren von Flimmerlarven in die Wirtsschnecke bedeutet nicht unbedingt Weiterentwicklung zu Redien und Cercarien. Trotz Eindringens von mehr oder weniger zahlreichen Miracidien in die Schnecke entwickeln sich nur ein oder zwei zu Sporozysten und weiteren Entwicklungsstadien (STEFANSKI, 1959; CHOWANIEC und DROZDZ, 1959). TAYLOR (1964) hingegen beschreibt, daß er bis zu 30 sich entwickelnde Sporozysten gefunden habe.

Gelangen die Leberegellarven in den Schneckenfuß, so sollen sie bereits innerhalb eines Tages degenerieren (PANTELOURIS, 1965). Dagegen fand ESCUDERO DIEZ (1971) Sporozysten auch im Schneckenfuß. Allerdings waren die meisten sich nicht entwickelnden Sporozysten im Gewebe des Schneckenfußes zu finden. Nach 8 Tagen p.i. war bereits bei hohen Infektionsdosen eine Rückbildung der Sporozysten festzustellen, am 13. p.i. befanden sie sich schon in fortgeschrittener Degeneration.

Die Sporozyste wächst bei Umwelttemperaturen von 16-19° C in der Schnecke von 0,15 mm innerhalb von 13 Tagen bis zu 0,6 mm, wobei sie ihre elliptische Form in eine sackförmige verändert. Sie liegen als wenig bewegliche Stadien während der ersten drei Tage p.i. in der präoesophagealen Region und verwandeln sich in die mobile Form. Aus den Keimballen

in den Sporozysten entwickeln sich nach spätestens 8 Tagen die Redien (ROBERTS, 1950; PANTELOURIS, 1965).

ESCUDERO DIEZ berichtet 1971, daß 15 Tage alte Sporozysten vom Schneckengewebe mit einer bindegewebigen Umhüllung aus Fibroblasten isoliert werden.

Die reifen Redien, charakterisiert durch Oesophagus und Stummelfüße, wandern nach dem Platzen der Sporozystenwand über Bindegewebe, Blut- und Lymphkanäle zur Mitteldarmdrüse der Schnecke (PANTELOURIS, 1965). Weitere Ansiedlungsorte sind die Körperhöhle und die Niere. Auf der Wanderung zerstören sie das Gewebe und hinterlassen Hohlräume ohne Struktur. Die wandernde Redie ernährt sich von zerstörtem Bindegewebe und Lymphe (ESCUDERO DIEZ, 1971). In der Mitteldarmdrüse findet man sie im Binde- oder interstitiellen Gewebe. Hier entwickelt sich in den Redien die Tochterredien- generation. ROBERTS (1950) fand bereits am 26. Tag p.i. bei Temperaturen von 16-19° C eine große Redie, die Tochterredien enthielt.

Die Temperatur hat einen entscheidenden Einfluß auf die Entwicklungsgeschwindigkeit der Parasiten in der Schnecke. Bei Temperaturen unter 10° C ist die Entwicklung aller intramolluskulären Stadien von *F. hepatica* unterbrochen (KENDALL und Mc COLLOUGH, 1951; OLLERENSHAW, 1966; TAYLOR, 1964), ebenso bei über 28° C (KENDALL, 1965). Während der sinkenden Temperaturen des Herbstes hört die Aktivität der Egel-Larven daher zu einem früheren Zeitpunkt auf, als die der Schnecke. So überleben Redienstadien zwar Temperaturen von 9° C, ohne sich weiter zu entwickeln, bei einem Anstieg auf über 20° C setzt aber eine schnelle Entwicklung ein.

Bei 20-25° C entwickeln sich nach ca. 42 Tagen p.i. in den Tochterredien ca. 16-20 Schwanzcercarien (TAYLOR, 1964), welche aus der Mitteldarmdrüse in die unterste Gehäusewindung abwandern (ESCUDERO DIEZ, 1971). Die Entwicklung aller Larvalformen läuft nach KENDALL und Mc COLLOUGH (1951) nicht synchron, so können z.B. reife und unreife Redien und Cercarien in verschiedenen Stadien existieren. Daher reifen die Cercarien nicht zur gleichen Zeit. Sie verlassen die Schnecke über einen ausgedehnten Zeitraum.

Der Austritt der Cercarien aus der Schnecke ist ein passiver Vorgang. Der Mantel der Schnecke übt einen Druck auf den Spitzenteil des perivascularären Raumes aus und ruft dadurch die Auswanderung hervor. Es können täglich einige hundert Cercarien durch das Atemloch der Schnecke ausschlüpfen, Voraussetzung ist aber Feuchtigkeit, denn in Trockenstarre befindliche Schnecken entlassen keine Cercarien.

Frisches Wasser hat einen austrittsfördernden Effekt, während ein hoher CO_2 -Gehalt der Umwelt die Austrittsdauer verlängert (KENDALL und Mc COLLOUGH, 1951).

BORAY (1963) schreibt, daß eine Stimulation des Austritts von Cercarien durch bisher noch ungeklärte physikalische Bedingungen hervorgerufen wird.

Die Produktion von Cercarien in *G. truncatula* hängt sowohl von der Größe der Schnecke und ihren Lebensbedingungen als auch von der Anzahl der eingedrungenen Miracidien ab. Die Gesamtproduktion von Cercarien hängt daher nicht allein von der Anzahl der Schnecken innerhalb eines Biotops ab. Mit sinkender Stückzahl pro m^2 steigt die Menge der Cercarien in den einzelnen Schnecken auf Grund der besseren Ernährungsverhältnisse, da sich bei guter Ernährung mehr Redien in den Sporozysten entwickeln (KENDALL, 1949 b und BORAY, 1963). So konnten experimentell in einer Schnecke unter günstigen Verhältnissen 2018 Cercarien produziert werden (KENDALL, 1949 b).

Der Verlauf der Entwicklung von *F. hepatica*-Larven ist abhängig vom Alter der Schnecken. In sehr jungen Mollusken betrug die Cercarienentwicklung im Labor bei 19°C 88 Tage, bei älteren Schnecken 122 Tage (HOVORKA, 1960).

Nach Laboruntersuchungen von BERGHEN (1964) gelten 6-7 Miracidien als günstigste Infektionsdosis, jedoch führte eine Infektion mit einem Miracidium zur Entwicklung von mehr als 40 Redien. Das ist anscheinend eine Zahl, die dem Wirtshaushalt gerecht wird, da sie die schnellste Entwicklung erlaubt (KENDALL, 1949 b).

In der Natur führt ein Regenguß oder eine zeitweilige Überflutung des Schlamm-schneckenbiotops zum Ausschlüpfen der Cercarien und zu ihrer Encystierung an günstigen Stellen wie Grashalmen, Pflanzenteilen usw. (KENDALL und Mc COLLOUGH, 1951). Hier umhüllen sich die Cercarien nach Abwurf des Schwanzes mit einer extra Zystenwand, innerhalb der sich verhärtenden Sekretmasse, die als Schutzhülle fungiert.

Nach 2-3 Tagen verwandelt sich die Cercarie in eine infektionsfähige Metacercarie, und es entwickeln sich die Anlagen der Geschlechtsorgane (TAYLOR, 1964). Nach BORAY (1963) sind Metacercarien schon nach 24 Stunden infektionstüchtig. Allerdings soll die Infektiosität mit steigender Temperatur absinken und eine Überlebensmöglichkeit der Metacercarien nur zwischen -19°C und 42°C möglich sein (KAKACHEVA-AVRAMOVA, 1962; BORAY und ENIGK, 1964).

Zur Frage, ob noch andere Lymnaeiden als Zwischenwirt für *F. hepatica* in Frage kommen, glaubt BORAY (1966), daß in den meisten Lymnaeiden, vor allem im Jungschneckenstadium, eine Entwicklung eindringender Miracidien möglich ist. Je nach Adaptation produzieren sie Cercarien in unterschiedlichen Zahlen oder die Entwicklung bleibt bereits in einem frühen Larvalstadium stecken. So konnte experimentell die vollständige intramolluskuläre Entwicklung von *F. hepatica* zum Cercarienstadium in *Lymnaea stagnalis*, *Galba palustris*, *Galba glabra* und *Galba truncatula* von KENDALL (1950) und TAYLOR (1964) in *Radix ovata* von BOGOMOLOVA (1961) und in *Galba occulta* von CZAPSKI (1962) erzielt werden. STIEGLER (1954) hatte bei Infektionsversuchen nur Erfolg mit *Galba truncatula*.

C. Beeinflussung der Schnecke *Galba truncatula* durch die larvale *Fasciola hepatica*-Infektion und äußere Umweltseinflüsse (z.B. Temperatur)

Unter natürlichen Bedingungen scheinen die Zwergschlamm-schnecken durch den Befall mit larvalen *F. hepatica*-Stadien nicht besonders in ihrer Lebensfähigkeit beeinflusst zu werden, da infizierte Exemplare nicht häufiger als parasitenfreie sind, wie KENDALL (1949 a) ausdrücklich

feststellte. Dagegen sprechen allerdings die Beobachtungen von CHOWANIEC und DROZDZ (1959), daß bei Umwelttemperaturen von 17-21° C kleine Schneckenexemplare gewöhnlich nach der Infektion sterben, während Schnecken mit einer Gehäusegröße von 3-6 mm am stärksten befallen werden. Bei einer Schalenhöhe von über 7 mm scheint eine Infektion nicht mehr anzugehen, wahrscheinlich auf Grund der Gewebestruktur der erwachsenen Schnecken. Bei WIKERHAUSER und ZUKOWIČ (1968) verliefen Infektionsversuche erst an über 10 mm großen *G. truncatula* immer negativ.

BERGHEN (1964) beobachtete, daß nach massiver experimenteller Infektion 70 % der befallenen Schnecken sterben. Widersprüchlich sind jedoch seine Angaben, daß infizierte *G. truncatula* ihre größte Gehäuselänge schneller erreichen. Die Entwicklung der Schnecke scheint daher durch die Larven von *F. hepatica* stimuliert zu werden. Im Gegensatz dazu tritt bei *L. stagnalis* und *L. palustris* eine Wachstumsverminderung auf.

Eine hohe Absterberate von *G. truncatula* im Labor zum Zeitpunkt des Cercarienschlupfes oder kurz danach beobachteten STEFANSKI (1959) und CHOWANIEC (1961). Deshalb wird der Reinfektion von Schnecken mit *F. hepatica* keine Bedeutung beigemessen. Laborexperimente zeigten, daß eindringende Miracidien eine geringere Entwicklungschance in infizierten als in nichtinfizierten Schnecken besitzen (CHOWANIEC, 1961).

Ein weiterer Punkt scheint die Beeinflussung der Reproduktionsrate der Schnecken durch die Infektion mit Trematodenlarven zu sein. So fanden STURROCK und STURROCK (1970), daß bei *Biomphalaria glabrata* durch eine Infektion mit *Schistosoma mansoni*-Larvalstadien die Eiablage rapide herabgesetzt wird und die Mortalität sich erhöht.

Bei Schnecken (*Menetus dilatatus*) mit *Spirorchis scripta*-Befall war die Eiablage am 2. Tage p.i. reduziert und vom 7. Tage an völlig gestoppt (HOSIER und GOODCHILD, 1970). Eine Reduzierung der Eiablage auf ca. 10 % 4 Wochen p.i. beschrieben ETGES und GRESSO (1965) bei *Australorbis glabratus* mit *Schistosoma mansoni*-Befall.

Nach CHOWANIEC und DROZDZ (1959) können infizierte Schnecken und die darin enthaltene Leberegelbrut in der Natur bei nicht zu tiefen Temperaturen überwintern, wie es Freilandversuche in Polen zeigten. Eine geschützte Wiesenmulde mit Wassertümpel und schlammigem Untergrund diente als Biotop für 125 Zwergschlammschnecken von 3-3,5 mm Größe, die mit 10-20 Miracidien infiziert waren. Im November, bei Durchschnittstemperaturen von $-1,1^{\circ}\text{C}$, verbargen sich die Schnecken in Schlammritzen des Ufers. Die tiefste Durchschnittstemperatur ($-6,4^{\circ}\text{C}$) wurde im Monat Januar gemessen. Ende März traten die ersten Schnecken bei Durchschnittstemperaturen von 5°C wieder auf. Es überlebten 33 Exemplare.

BEDNARZ (1960) behauptet dagegen auf Grund seiner Beobachtungen, daß bei befallenen Schnecken pathologische Prozesse eine Aktivitätssteigerung bedingen und deshalb die Zwischenwirte wenig Chancen haben, günstige Winterplätze zu finden, da die Reserven aufgebraucht werden. Nach seiner Ansicht sind das die Hauptgründe, die es den infizierten Schnecken in der Mehrheit unmöglich machen, den Winter zu überstehen.

TAYLOR (1964) hält ebenfalls die Infektion und die zusätzlichen Wintertemperaturen für eine zu hohe Belastung in Bezug auf die Überlebenschancen befallener *G. truncatula*.

Wie histologische Untersuchungen zeigen, führt die Invasion von larvalen Formen von *F. hepatica* in *G. truncatula* zur Desintegration des Wirtgewebes, zum Auftreten von schwarzem Pigment und zur Verminderung der "Leberzellen" auf eine dünne Schicht Protoplasma, welches die Kerne enthält (REES, 1931).

Daß auch hohe Temperaturen die Schnecken beeinflussen, konnte in Laborversuchen geklärt werden, da bei Wassertemperaturen von 26°C infizierte *G. truncatula* sehr schwer am Leben zu erhalten sind (KENDALL und Mc COLLOUGH, 1951).

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Für die Larvalentwicklung von *F. hepatica* im Zwischenwirt wurden Zwergschlammschnecken (*Galba truncatula*) aus eigener Laborzucht verwendet, um eine genügende Anzahl nachweislich parasitenfreier Schnecken zur Verfügung zu haben. Die Original-exemplare stammten teilweise aus einem leberegelverseuchten Gebiet in Burgsteinfurt (Nordrhein-Westfalen) und aus dem Raum Frankfurt/Main.

Von den in das Labor verbrachten Schnecken wurden die Eigelege abgesammelt, in neue Zuchtkästen gelegt und hier im Schlamm der Gewässer-Ufergrenze, dem Biotop, abgelegt. Die hieraus gezogene Nachzucht wurde für Versuche verwendet, als sie eine Größe von mindestens 3 mm erreicht hatte.

Die Haltung der Schnecken erfolgte in Makrolonkästen Typ Nr. 3. Der Untergrund der Kästen war mit einer 4 cm dicken Lehmschicht bedeckt, welche von einem Acker guter Bonität stammte. Ein 2-3 cm tiefer und ca. 6 cm breiter Graben, der in die Lehm-schicht modelliert war, unterteilte den Kasten in der Mitte. Über die gesamte Fläche wurde anschließend eine ca. 1 cm dicke Schlammschicht gestrichen, die aus einem natürlichen Zwergschlammschneckenbiotop stammte.

Anschließend standen die Kulturkästen für einige Tage zum Trocknen im Labor, um eine Verfestigung der Schlammschicht zu erreichen, damit bei der späteren Bewässerung nicht zu schnell die "Uferzonen" abgeschwemmt wurden.

Alle Kästen wurden täglich, nach dem Besetzen mit Eigelegen oder geschlüpften Jungschnecken, mit Oberflächenwasser (Quellwasser) aus dem Berliner Raum berieselt. Das Wasser hatte einen pH-Wert von 7,85 und war mit Grünalgen angereichert. Die Bewässerung erfolgte so, daß der Mittelgraben gefüllt wurde und das umliegende "Ufergelände" sich entsprechend anfeuchtete.

Um eine Einschleppung von Insekteneiern und -larven, sowie anderer Molluskengelege zu verhindern, wurde das Quellwasser gefiltert. In einer Höhe von 50 cm über den Versuchskästen

wurde während der sonnenarmen Wintermonate zusätzlich eine Lichtquelle in Form einer Wachstumslampe verwendet, um ein besseres Algenwachstum und damit eine schnellere Entwicklung der Jungschnecken zu erreichen.

In Abwandlung des von BORAY (1969) empfohlenen Kunstfutters für *L. tomentosa* aus 25 % geriebenem trockenem Salat, 25 % Luzernemehl und 50 % geriebener Weizenkleie, diente in unserem Versuch neben der natürlich gebildeten Mikroalgensicht ein Gemisch von 5/6 lyophilisiertem, fein zerriebenem grünem Salat und 1/6 gesiebter Weizenkleie als Nahrungsgrundlage. Es wurde in zweitägigem Abstand auf die Wasseroberfläche des Grabens bzw. auf den feuchten Schlamm der Uferzonen in dünner Schicht gestreut und gut von den Schnecken angenommen. Die zusätzlichen Futtergaben waren notwendig, auf Grund der relativ hohen Populationsdichten in den Versuchskästen (20 erwachsene Schnecken pro Makrolonkasten Typ Nr. 3).

Das Eimaterial von *Fasciola hepatica* zur Infektion der Zwischenwirtschnecken wurde aus der Gallenflüssigkeit natürlich infizierter Schlachtrinder gewonnen, mehrmals mit Leitungswasser aufgeschwemmt und in Petrischalen bei Temperaturen von 28° C bebrütet. Die Kulturen wurden täglich belüftet und das verdunstete Wasser in den Petrischalen durch Aqua dest. ersetzt, um die Erhöhung der Salzkonzentration zu verhindern. Nach 11-13 Tagen wurden die Leberegeleier aus dem Brutschrank herausgenommen und konnten bei Zimmertemperaturen bis zum benötigten Schlupf noch weitere 4-5 Tage verdunkelt gehalten werden.

Um eine schnelle und einheitliche Schlupfrate zu erreichen, wurden die embryonierten Leberegeleier 10 Min. im Kühlschrank aufbewahrt und danach unter einer Glühlampe in einer kleinen Glasschale aufgestellt. Die Veränderung der Licht- und Temperaturverhältnisse fördert nach den bisherigen Erfahrungen die Schlupftätigkeit der Miracidien.

Zur Infektion der Schnecken wurden Miracidien je nach Infektionsdosis in Blockschälchen abgezählt, Quellwasser hinzugegeben und Mollusken einzeln dazugesetzt. Unter dem Stereomikroskop konnte das Eindringen der Miracidien und daher das Angehen der Infektion kontrolliert werden.

Befanden sich genügend Miracidien an der Schnecke, so wurden diese in ein anderes Blockschälchen mit Quellwasser (ohne Infektionsmaterial) gelegt, die abgefallenen Leberegellarven ausgezählt und so die genaue Infektionsdosis ermittelt.

Bei der Versuchsanordnung über die maximale "Angehensrate" von Miracidien im Schneckenwirt wurden die Schnecken in dicht mit Infektionsmaterial besetzte Petrischalen gesetzt, da hier eine genaue Dosierung nicht nötig war. Sie verblieben darin ca. 30 Min., um anschließend erneut in einer Petrischale mit Quellwasser, aber ohne Infektionsmaterial, für 1 Stunde aufbewahrt zu werden. Die Temperatur entsprach der des vorherigen Milieus, etwa 22° C. Danach wurden die infizierten Schnecken in die vorbereiteten Terrarien gesetzt und bei Temperaturen von 18-24° C im Labor gehalten.

Um das Angehen der Infektion bzw. die Entwicklung der verschiedenen Larvalstadien von *F. hepatica* zu kontrollieren, wurden die Schnecken in vivo unter dem Stereomikroskop alle zwei Tage ab der dritten Woche p.i. auf Redien- bzw. Cercariestadien untersucht. Damit der frühestmögliche Cercarienschlupf beobachtet werden konnte, wurden die Schnecken nach Ablauf der intramolluskulären Entwicklungszeit von *F. hepatica* in mit Quellwasser gefüllten Bechergläsern erst 1 Stunde in den Kühlschrank und anschließend unter eine Glühlampe gestellt. Die ausschlüpfenden Cercarien enzystierten sich an einer auf der Wasseroberfläche schwimmenden Zellophanfolie und konnten so leicht ausgezählt werden. Nach 2-3tägigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur verblieben die Metacercarien zur Aufbewahrung in einer feuchten Kammer im Kühlschrank. Die Infektionstüchtigkeit der Metacercarien wurde an Mäusen überprüft. Dabei erhielten die Versuchstiere jeweils 5 Metacercarien, wurden 4 Wochen p.i. getötet und die Leberveränderungen sowie die Anzahl und Länge der jungen Egel bestimmt.

Zur Überprüfung des Einflusses vom Temperatur und Infektionsstatus auf die Schnecke wurden *G. truncatula* mit verschiedenen alten *F. hepatica*-Infektionen unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt. Die Schnecken wurden mit 4-7 Miracidien infiziert und bei Zimmertemperaturen bis zu einem Larvalentwicklungsstadium von

- a) 12 Tagen p.i. (Sporozysten)
- b) 38 Tagen p.i. (Redien, Tochterredien)
- c) 50 Tagen p.i. (Cercarien)

gehalten.

Jeweils 20 Schnecken der einzelnen Chargen wurden anschließend folgenden Temperaturen ausgesetzt und dann bei 18-24° C bis zum Cercarienschlupf gehalten:

- 1) 3 Wochen Kühlschrank (0-4° C), dann bei 18-24° C,
- 2) Temperaturen von
 - 1 Woche -10° C, 1 Woche Labortemperatur,
 - 1 Woche -10° C.
- 3) 1 Woche -5° C, 1 Woche Labortemperatur,
1 Woche -5° C.
- 4) Außentemperaturen (März, April, Mai, Juni)
(von der Infektion bis zum Cercarienstadium).
- 5) 18-24° C (von der Infektion bis zum Cercarienschlupf).

Um bei den Kälteeinwirkungsversuchen einen Temperaturschock zu vermeiden, kamen die Versuchskästen mit den Schnecken erst für 2 Tage in den Kühlschrank. Danach wurden sie, von 0° C beginnend, in einem "Köttermann"-Klimaschrank alle anderthalb Stunden um 2° C auf -10° C bzw. -5° C herabgeköhlt. Zur Nachahmung natürlicher Verhältnisse und zur Verhinderung des Austrocknens wurden die Kästen bei tiefen Temperaturen mit einer 3-5 cm dicken Schneeschicht bedeckt und mit einer Plastikfolie überspannt. Messungen der Bodentemperaturen ergaben, daß jeweils ein völliger Ausgleich zur Umgebungstemperatur (-5° C bzw. -10° C) bestand.

Nachdem die Schnecken aller Serien den bestimmten Versuchsbedingungen ausgesetzt waren, wurden sie bei Zimmertemperatur bis zum Ausschlüpfen der Cercarien aufbewahrt, die überlebenden Exemplare jeder Serie festgestellt, sowie die Legetätigkeit der Schnecken im Labor nach der Infektion im Vergleich zu nicht infizierten Exemplaren kontrolliert.

Zur Klärung des Einflusses der Infektionsdosis auf die Schnecke wurden je 20 Schnecken mit 1, 2, 4-7, 8-10, 15-20 Miracidien infiziert und in den beschriebenen Terrarien

bei Labortemperaturen ($18-24^{\circ}\text{C}$) ausgesetzt. Es sollte der Zeitpunkt der ersten Auswanderung von Cercarien abgewartet und die bis dahin aufgetretene Absterberate in den einzelnen Kästen festgestellt werden.

Um eine Reinvasionenmöglichkeit bei Galba truncatula mit F. hepatica-Miracidien prüfen zu können, wurden Schnecken verwendet, die nachweislich bereits Cercarien produziert hatten, und die nach mikroskopischer Kontrolle sowie wiederholtem negativem Cercarienschlupfversuch parasitenfrei waren.

Es wurden 40 Schnecken mit 4-7 Miracidien infiziert und bei Temperaturen von $18-24^{\circ}\text{C}$ in den beschriebenen Terrarien gehalten.

Um die Anzahl eindringender Miracidien und deren Entwicklung zu Sporozysten zu kontrollieren, verwendete ich Schnecken, die einer massiven Infektionsdosis ausgesetzt waren. Bis zum 14. Tag p.i. wurden täglich jeweils 5 infizierte G. truncatula-Exemplare histologisch bzw. präparativ untersucht. Für die histologischen Schnitte mußten die Mollusken in 4 %iges Formalin gelegt und nach 4 Tagen mittels vorsichtigen Druckes die Gehäuse zerbrochen werden. Unter dem Stereomikroskop wurden die Schalenreste sorgfältig abgesammelt und der Schneckenkörper für weitere 5 Tage im Formalin gelagert. Anschließend erfolgte die Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe, um dann, in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Hämalaun-Eosin gefärbt zu werden.

Bei der Präparation wurden unfixierte, lebende Schnecken vom 6. Tag p.i. mit vorsichtigem Druck von den Kalkschalen befreit. Dabei mußte eine Beschädigung des Schneckenepithels vermieden werden, um ein vorzeitiges Austreten der Sporozysten zu verhindern. Der Schneckenfuß wurde unterhalb des Mantelwulstes abgetrennt, ebenso die in den oberen Gehäusewindungen liegenden Drüsen- und Darmanteile. Der zwischen beiden abgetrennten Stücken liegende Körperanteil bestand größtenteils aus dem perioesophagealen Raum, dem Schneckenmantel und der Atemhöhle.

Das so gewonnene Gewebstück wurde auf einem Objektträger unter dem Stereomikroskop in einigen Tropfen Quellwasser zerzupft, um die Sporozysten freizulegen und auszuzählen. Die beiden abgetrennten Körperanteile, Fuß- und Drüsen-Darmteil der Schnecke wurden ebenfalls auf vorhandene Larvalstadien durchgemustert. Zur Verdeutlichung morphologischer Einzelheiten färbte ich teilweise die gefundenen Sporozysten mit Aceto-Orcein.

B. Ergebnisse

a) Experimentelle Infektion von Galba truncatula mit Miracidien von Fasciola hepatica

Bei der Infektion von *Galba truncatula* mit Miracidien zeigte sich, daß die Art und Menge des verwendeten Wassers einen entscheidenden Einfluß auf den Infektionserfolg hatte. Bei Verwendung von Leitungswasser statt Quellwasser zogen sich die Schnecken in das Gehäuse zurück und sonderten eine Schleimschicht ab, die von den Miracidien nicht durchdrungen werden konnte. In mit zu wenig Wasser gefüllten Blockschälchen kamen die Schnecken kaum aus ihrem Gehäuse hervor und boten daher nur eine geringe Angriffsfläche für die Miracidien. Die daraus resultierende Verlängerung der Eindringungsphase führte zu einer Abnahme der Miracidienaktivität, ebenso bei der Verwendung von zuviel Wasser auf Grund der verringerten Miracidien-dichte des Infektionsmediums.

Ein weiterer wichtiger Faktor für den Erfolg experimenteller Infektionen war die Temperatur des die Schnecken bzw. Miracidien beinhaltenden Wassers. Während der Erhöhung der Wassertemperatur auf 30° C konnte ich beobachten, daß sich einbohrende Leberegellarven teilweise wieder vom Schneckenepithel ablösten und leblos auf den Grund des Infektionsgefäßes sanken. Die gleiche Erscheinung trat bei plötzlicher Senkung der Wassertemperatur auf, wenn Schnecken mit anhaftenden Miracidien aus erwärmten (25-28° C) Blockschälchen zur Manifestation des Leberegellarvenbefalls in andere Schälchen mit frischem kühleren (ca. 20° C) Quellwasser gesetzt wurden.

Zur Bestimmung der tatsächlichen Infektionsdosis war es notwendig, feststehende, eindringende Flimmerlarven von nur leicht anhaftenden Exemplaren, die sich schnell wieder ablösen können, zu unterscheiden. Beobachtungen während der Versuche zeigten eine Differenzierungsmöglichkeit: Eindringende Miracidien unterschieden sich von im Frühstadium des Einbohrens befindlichen dadurch, daß das Hinterende keine Bewegungen mehr ausführte und das vorher stumpfe, breite Vorderende eine länglich-spitze Form annahm. Aus der vormalig stumpfkeglichen Körpergestalt wurde eine fischähnliche, d.h. Vorder- und

Hinterende des Miracidiums wurden länglich-spitz (sie verjüngten sich). Diese Form erschien günstig zur Durchdringung des Schneckenepithels.

b) Der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Überlebensfähigkeit von mit Fasciola hepatica infizierten Galba truncatula

Bei den Schnecken, die mit 4-7 Miracidien infiziert waren, und die während des gesamten intramolluskulären Entwicklungsablaufs von *F. hepatica* unter Laborbedingungen von 18-24° C gehalten wurden, wanderten nach 50-52 Tagen p.i. die ersten Cercarien aus. Bis zu diesem Zeitpunkt überlebten 14 infizierte und 12 parasitenfreie Kontrollen von jeweils 20 Schnecken.

Der Freilandversuch lief unter Außentemperaturen von Mitte März bis Mitte Juni ab. Die Durchschnittstemperaturen für die zweite Hälfte des Monats März betrugen 5,6° C, für den Monat April 8,5° C, für Mai 15,1° C und Juni 16,5° C, d.h. eine Durchschnittstemperatur während der Entwicklungszeit der Leberegelarven von 11,4° C. Die tiefste Temperatur trat im März auf mit -2,2° C, die höchste im Juni mit 28,1° C. Während des Versuchs hielten sich die infizierten wie auch nichtinfizierten Schnecken im Bereich der schlammigen Uferzonen und im Wassertümpel der Versuchskästen auf. Sie vergruben sich auch nicht bei tiefen Temperaturen (-2,2° C). Die ersten Cercarien wanderten nach 88 Tagen p.i. aus. Von den je 20 Schnecken überlebten 12 infizierte und 10 nichtinfizierte Exemplare. In beiden Versuchen zeigte sich, daß bei mäßigen Infektionen (4-7 Miracidien) die Mortalität keinesfalls höher ist, als bei nichtinfizierten Schnecken.

Im Versuch mit Kühlschranktemperaturen waren je eine Charge mit 20 Schnecken im Infektionsstadium mit Sporozysten, Redien-Tochterredien bzw. Cercarien 3 Wochen Temperaturen von 0-4° C und anschließend Labortemperaturen ausgesetzt.

Nach Einwirken der Versuchsbedingungen auf *G. truncatula* mit einer Larvalinfektion im Sporozystenstadium traten die ersten Cercarien am 72. Tage p.i. aus, d.h. nach einer larvalen Entwicklungsdauer im Labor von 51 Tagen. Dabei ergab sich, daß 7 infizierte gegenüber 9 nichtinfizierten Schnecken überlebten.

Fast gleiche Ergebnisse (50 Tage) bezüglich der Dauer der Larvalentwicklung zeigten sich im zweiten Versuch mit Schnecken, die Redien-Tochterredien beinhalten. Hierbei überlebten 10 infizierte bzw. 12 nichtinfizierte der jeweils 20 Schnecken. Im letzten Versuch dieser Gruppe wurden Schnecken mit Larven im Cercarienstadium verwendet. Auch hier trat kein Unterschied in der Mortalität zwischen infizierten *G. truncatula* und den Kontrollen auf.

Bei den Versuchen mit Temperaturen von -10°C , Labortemperaturen und nochmals -10°C je über eine Woche im Klimaschrank überlebte keine Schnecke der verschiedenen Chargen. Dabei zeigte sich, daß schon nach einer Woche bei -10°C sowohl die infizierten als auch die nichtinfizierten *G. truncatula* nicht mehr lebensfähig waren.

Das gleiche Ergebnis wurde bei Temperaturen von -5°C , Labor-temperatur und -5°C über je eine Woche gefunden. Als die Kästen langsam heruntergekühlt wurden, vergruben sich die Schnecken nicht in den Schlamm, sondern hielten sich im Wassertümpel auf.

Die Versuche ergaben, daß sowohl infizierte als auch nichtinfizierte Schnecken keine direkten Temperatureinwirkungen von -5°C bzw. -10°C über eine Woche aushielten, auch wenn sie mit einer Schneeschicht zur Verhinderung der Austrocknung überdeckt waren. Eine Übersicht der verschiedenen Versuchsergebnisse des Temperatureinflusses auf *G. truncatula* ist in Tabelle 1 zusammengestellt.

Die aus verschiedenen Versuchsanordnungen gewonnenen Metacercarien wurden an Mäusen auf ihre Infektionsfähigkeit getestet. Dabei zeigte sich, daß bis zu 4 der jeweils 5 verabreichten Metacercarien bei den einzelnen, 4 Wochen p.i. getöteten Mäusen angingen, gleichgültig, ob das Material aus den Freiland-, Kühlschranks- oder Laborversuchen stammte. Die gefundenen Leberegel hatten eine Länge von 3-7 mm und eine Breite von 2-4 mm. In den Uterusschläuchen befanden sich nur Eier im Frühstadium der Entwicklung. Eine unterschiedliche Pathogenität der Metacercarien aus den einzelnen

Versuchen konnte nicht festgestellt werden, da Lebergewebe und Leberoberfläche sämtlicher infizierten Mäuse bis zur Hälfte mit Bohrgängen bzw. gelb-grünen Auflagerungen verändert waren.

Anz. Schnecken infiz. / nicht-infiz.	Infektions- stadium	Temperatur °C	Einw.- Dauer in Tagen	überlebende Schnecken infiz. / nicht-infiz.
20 / 20	Sporozysten bis Cercarien	- 2,2-28,1°	88	12 / 14
20 / 20	Sporozysten bis Cercarien	18-24°	50	14 / 13
20 / 20	Sporozysten	0-4° 18-24°	21 51	7 / 9
20 / 20		-10° 18-24° -10°	7 7 7	0 / 0
20 / 20		-5° 18-24° -5°	7 7 7	0 / 0
20 / 20		0-4° 18-24°	21 50	10 / 12
20 / 20	Redien Tochterredien	-10° 18-24° -10°	7 7 7	0 / 0
20 / 20		-5° 18-24° -5°	7 7 7	0 / 0
20 / 20		-10° 18-24° -10°	7 7 7	0 / 0
20 / 20	Cercarien	-5° 18-24° -5°	7 7 7	0 / 0

Tab.1: Einwirkung verschiedener Temperaturen auf die Überlebensrate von nichtinfizierten bzw. mit je 4-7 F. hepatica-Miracidien infizierten G. truncatula in verschiedenen Infektionsstadien.

c) Der Einfluß der Infektionsdosis (Anzahl der Miracidien)
auf Galba truncatula

Die Überlebensfähigkeit der Schnecke sollte durch einen Versuch mit steigenden Infektionsdosen von 1-20 Miracidien getestet werden. Bei Labortemperaturen von 18-24° C lief der intramolluskuläre Cycclus der Leberegelarven innerhalb von 49-50 Tagen mit dem Beginn des Auswanderns von Cercarien in allen Versuchskästen ab. Die Absterberate von *G. truncatula* auf Grund der unterschiedlich hohen Miracidieninfektionen ist in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

Anzahl Schnecken	Infekt. Dosis Miracidien	abgestorben nach			überleben- de Schnecken
		0-2 Wo.	2-4 Wo.	4-7 Wo.	
20	1	1	3	2	14
20	2	1	1	1	17
20	4-7	1	2	2	15
20	8-10	2	3	3	12
20	15-20	3	8	6	3
20	Kontrolle	1	1	3	15

Tab. 2: Überlebensrate der mit unterschiedlichen Dosen von *F. hepatica*-Miracidien infizierten *G. truncatula*.

Die Überlebensrate der Schnecken ist bis zur Standardinfektionsdosis von 4-7 Miracidien kaum unterschiedlich (14-17) gegenüber nichtinfizierten Schnecken (15) unter gleichen Umweltsbedingungen. Bei einer Dosis von 8-10 sinkt die Rate auf 12, bei 15-20 Miracidien auf 3, wobei es besonders nach 2-4 Wochen zu hohen Ausfällen kommt.

Auch die Reproduktionsrate der Schnecke wird durch die Infektion mit *F. hepatica* beeinflusst. Von Schnecken, die mit 4-7 bzw. bis

zu 10 Miracidien infiziert waren, wurden in den ersten 2-3 Wochen weiterhin Eigelege abgesetzt. Die Eiablage kam von der 3. bis 7. Woche p.i., kurz vor dem Zeitpunkt des ersten Cercarienschlupfes, fast völlig zum Erliegen. Von diesem Zeitpunkt an wurden die Cercarien alle 48 Stunden durch Temperaturveränderungen des Schneckenmilieus und Frischwassergaben zum Auswandern veranlaßt.

Mit der Abnahme der Cercarien in den Schnecken begann wieder die Eiproduktion. Innerhalb von 2 Wochen, in denen die Schnecken kaum noch Cercarien beinhalten, legten 31 Schnecken über 60 ca. 3-4 mm große Eiballen.

Im Versuch mit einer Infektionsdosis von 15-20 Miracidien pro Schnecke fand schon in den ersten Tagen p.i. keine Eiablage mehr statt und wurde auch nicht mehr im Verlauf der Infektion aufgenommen.

Die Legetätigkeit bei den Kontrolltieren erfolgte jedoch während der gesamten Versuchsdauer.

Zur Frage der Reinfektionsmöglichkeit von *Galba truncatula* wurden Schnecken verwendet, die einen Befall mit Larvalstadien von *Fasciola hepatica* hatten, und bei denen durch ständige wiederholte Schlupfversuche keine Cercarien mehr nachweisbar waren. Insgesamt 40 Schneckenexemplare wurden mit jeweils 4-7 Miracidien zum zweiten Male infiziert. Nach 49 Tagen war auch bei diesen Tieren die intramolluskuläre Phase von *Fasciola hepatica*-Larven beendet. Von den 40 Schnecken überlebten allerdings nur 10 die Reinfektion.

d) Entwicklungsrates der in *Galba truncatula* eindringenden Miracidien zu Sporozysten

In diesem Versuch wurden insgesamt 90 Schnecken massiv mit Miracidien infiziert und anschließend bei Labortemperaturen gehalten. Am 2. Tage p.i. konnte in den histologischen Schnitten lediglich bei einer von 5 *G. truncatula* eine Sporozyste im Schneckenmantel beobachtet werden, während am 4. und 5. Tage p.i. vermehrt Leberegellarven auftraten, die sich eindeutig vom Wirtsgewebe differenzieren ließen (Abb. 1). Am 6. Tage p.i. fand ich in Quetschpräparaten eine größere Anzahl von Sporozysten (bis zu 49 Stück in einer Schnecke). Sie hatten eine Länge von ca. 160 μ und traten besonders

im Mantel und im perioesophagealen Raum in Gruppen von maximal 10-12 Exemplaren auf. Die herauspräparierten Larvalstadien lagen unbeweglich im Quellwasser, ihre Körperwand führte wellenartige Kontraktionen aus. In Serienschnitten am 7. Tage p.i. waren die Sporozysten im Bereich des perioesophagealen Raumes und der Atemhöhle dicht gelagert. Auf Grund der großen, intensiv blau angefärbten (HE-Färbung) Keimballen waren die Leberegellarven deutlich zu erkennen, aber nicht einzeln zu unterscheiden, da die Sporozystenwände nur undeutlich sich abzeichneten und z.T. durch mechanische Einwirkung (Mikrotom) zerstört waren. Ab dem 9. Tage p.i. wiesen die immer noch große Keimballen beinhaltenden Sporozysten eine Länge von 210μ auf (Abb. 2), zugleich konnte mit insgesamt 53 entwickelten Exemplaren bei einer Schnecke der stärkste Befall festgestellt werden. Die gruppenweise Lagerung im perioesophagealen Raum war deutlich im Quetschpräparat (Abb. 3) wie auch im Schnitt (Abb. 4) zu erkennen. Die ersten $75-90\mu$ langen Redien in den Sporozysten beobachtete ich am 10. Tage p.i. Noch am 14. Tage p.i. beinhalteten die bis zu 540μ großen Sporozysten neben Redien auch noch Keimballen (Abb. 5). Zu diesem Zeitpunkt traten aber auch schon freie Redien mit einer Länge von 230μ auf.

Bei der Präparation der Schnecken erwies sich Quellwasser gegenüber anderen Flüssigkeiten, wie Leitungswasser, Insektenringer- oder Pufferlösung als Medium für die Erhaltung der Lebensfähigkeit der aufgefundenen Leberegellarven überlegen, da bei letzteren ein rasches Schrumpfen oder Deformieren zu beobachten war, was leicht zu Fehlbeschreibungen der äußeren Gestalt der Sporozysten führen konnte.

Obwohl alle Schnecken ungefähr gleichen Infektionsbedingungen ausgesetzt waren und die für eine Infektion günstige Größe von 3-6 mm Gehäuselänge hatten, entwickelten sich nicht in allen Versuchstieren gleich hohe Sporozystenzahlen. Es traten Differenzen zwischen 2 und 53 Exemplaren in den einzelnen Schnecken auf. Am häufigsten konnten Werte um 20 Sporozysten ermittelt werden, die fast ausschließlich im Bereich des perioesophagealen Raumes, der Atemhöhle und des Schneckenmantels gefunden wurden. Im Schneckenfuß fand ich bei ca. 70 untersuchten *G. truncatula* nur in den histologischen Schnitten

gelegentlich vereinzelte Sporozysten. Sie waren gegenüber den Sporozysten aus anderen Gewebsteilen verkleinert.

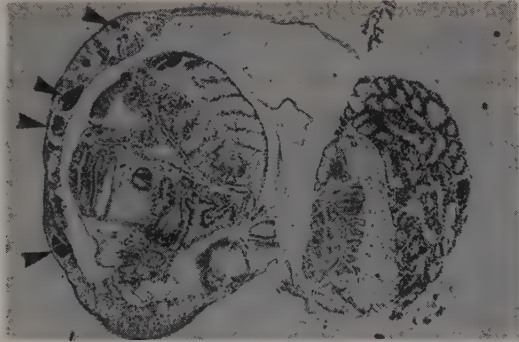


Abb. 1: Schnitt durch eine mit *F. hepatica* infizierte *G. truncatula* am 4. Tg. p.i., HE-Färbung, Orig. 56 x vergr.

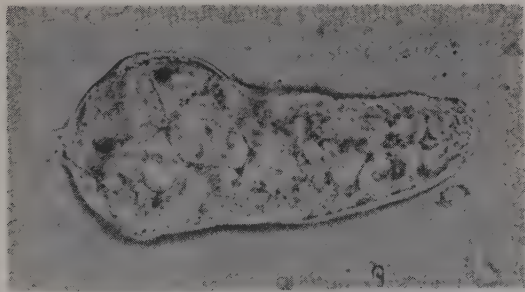


Abb. 2: Sporozyste von *F. hepatica* am 9. Tg. p.i., Orig. 400 x vergr.

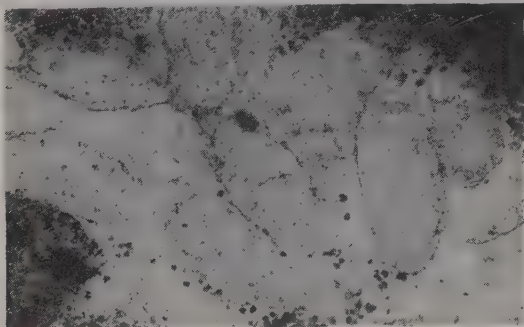


Abb. 3: Sporozysten von *F. hepatica* am 9. Tg. p.i., Orig. 140 x vergr.

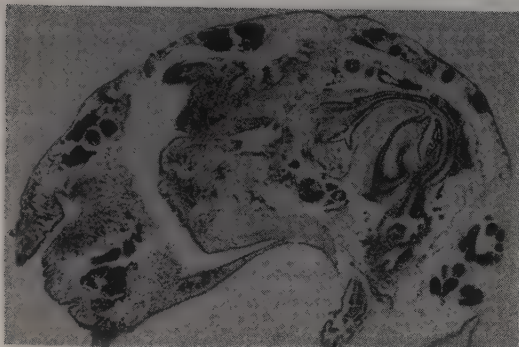


Abb. 4: Schnitt durch Mantel und Periesophagealraum einer mit *F. hepatica* infizierten *G. truncatula* am 10. Tg. p.i., HE-Färbung, Orig. 120 x vergr.

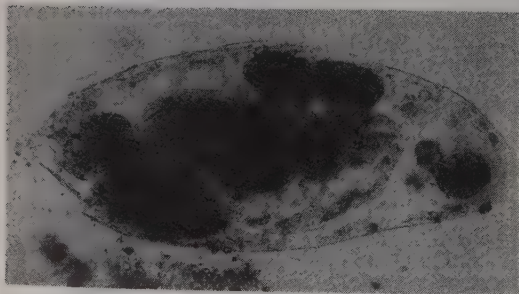


Abb. 5: Sporozyste mit Redien und Keimbällen am 14. Tg. p.i., Aceto-Orcein-Färbung, Orig. 190 x vergr.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Bei meinen Untersuchungen über die Einwirkung verschiedener Temperaturen auf *G. truncatula* zeigte sich, daß es bei 18-24° C, vorübergehendem Einfluß von 0-4° C oder -2,2° C, keine wesentlich unterschiedliche Einschränkung der Lebensfähigkeit gab. Auch war bei mäßigen Infektionen (bis zu 10 Miracidien) keine gesteigerte Mortalität gegenüber nicht befallenen Schnecken unter gleichen Versuchsbedingungen festzustellen. Zwar glauben CHOWANIEC und DROZDZ (1959), daß bei nicht zu tiefen Temperaturen infizierte *G. truncatula* in der Natur überwintern können, jedoch berichten BEDNARZ (1960) und TAYLOR (1964), daß Schnecken die Doppelbelastung (Infektion und Winter) nicht überstehen. Die Angaben von FROMMING (1956), daß Schnecken, im Schlamm vergraben, Temperaturen von -8° C über mehrere Monate überleben, konnte ich nicht bestätigen, da in meinen Versuchen nach Einwirkung schon von -5° C über eine Woche keine lebensfähigen Mollusken gefunden wurden. Hierbei handelte es sich allerdings um direkte Einwirkungstemperaturen und nicht, wie unter Feldbedingungen, um Außentemperaturen, die vermutlich nicht identisch mit den Bodentemperaturen sind.

Versuche mit unterschiedlich hohen Dosen von *F. hepatica*-Miracidien zur Infektion von *G. truncatula* ergaben, daß mit zunehmender Infektionsdosis die Überlebensmöglichkeiten der Schnecken rapide absinken. Nach KENDALL (1949 a) sind infizierte Schnecken nicht anfälliger als parasitenfreie. Diese Behauptung ist einzuschränken, da sich bei meinen Versuchen zeigte, daß bei einer Infektionsdosis bis zu 10 Miracidien kaum eine, jedoch bei 15-20 Miracidien pro Schnecke eine deutlich erhöhte Mortalitätsrate gegenüber den Kontrollen auftrat. Auch BERGHEN (1964) beobachtete nach massiven Infektionen, daß 70 % der infizierten Schnecken abstarben.

über eine stark verminderte Reproduktionsrate bei Schnecken mit larvalem Trematodenbefall berichten unter anderem ETGES und GRESSO (1965) für *Australorbis glabratus* bzw. STURROCK und STURROCK (1970) für *Biomphalaria glabrata* mit *Schistosoma mansoni*-Befall, sowie HOSIER und GOODCHILD (1970) für *Menetus dilatatus* mit *Spirorchis scripta*-Infektion. Diese Angaben

konnten auch in den vorliegenden Versuchen bei *G. truncatula* nach Infektion mit *F. hepatica*-Larven bestätigt werden. Es zeigte sich auch hier, daß der Rückgang der Eiablage von der Höhe der Infektionsdosis abhängig ist. Nach einer mäßigen Infektion (bis zu 10 Miracidien) war sie vermindert, bei einem massiven Befall (15-20 Miracidien) erfolgte jedoch keine Eiablage während der intramolluskulären Entwicklungsphase der Leberegellarven. Nach dem Auswandern der Cercarien allerdings wurde die Eiablage von den überlebenden Schnecken erneut aufgenommen.

Auf Grund einer hohen Sterbequote von infizierten *G. truncatula* während der Cercarien-Schlupfzeit (STEFANSKI, 1959; BORAY, 1963) hält CHOWANIEC (1961) eine Reinvasion mit *F. hepatica*-Miracidien kaum für möglich. Meine Untersuchungen zeigten jedoch, daß eine Reinfektion bei Zwergschlammschnecken erfolgreich angeht, die Mortalität aber so hoch ist, daß es für die Epidemiologie des großen Leberegels nur von geringer Bedeutung ist, denn nur ca. 5 % des Molluskenausgangsmaterials überlebten diese Belastung.

In den Schneckenfuß eindringende Miracidien von *F. hepatica* sind nach PANTELOURIS (1965) nicht entwicklungsfähig und degenerieren innerhalb von 24 Stunden. ESCUDERO DIEZ (1971) fand jedoch Sporozysten auch zu einem späteren Zeitpunkt noch in diesem Körperteil und hält deshalb die Sporozystenentwicklung in jedem Gewebsteil von *G. truncatula* für möglich. Da aber bei meinen Untersuchungen neben vereinzelt Funden im Schneckenfuß Sporozysten fast ausschließlich im Bereich des Mantels, des perioesophagealen Raumes und der Atemhöhle gefunden wurden, halte ich diese Bereiche für die Weiterentwicklung der Leberegellarvalstadien für besonders geeignet. STEFANSKI (1959) sowie CHOWANIEC und DROZDZ (1960) berichten, daß sich in einer *G. truncatula* nur zwei bzw. sehr wenige Miracidien zu Sporozysten weiterentwickeln. Dies steht jedoch im Gegensatz zu TAYLOR (1964), der bis zu 30 Sporozysten in einer Schnecke feststellte. Durch präparative Untersuchung massiv infizierter *G. truncatula* konnte auch ich bis zu 53, durchschnittlich ca. 20 pro Schnecke, sich entwickelnde Sporozysten vom 6. bis zum 14. Tage p.i. auffinden und anhand von Mikrofotos darstellen.

V. Zusammenfassung

Unter Laborbedingungen wurde der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Lebensfähigkeit von *G. truncatula* untersucht, die mit 4-7 Miracidien von *F. hepatica* infiziert waren. Die Zwergschlammschnecken wurden in verschiedenen Stadien der larvalen *F. hepatica*-Infektion (Sporozysten, Redien/Tochterredien und Cercarien) den Versuchsbedingungen ausgesetzt.

Bei Zimmertemperaturen (18-24° C) überlebten ca. 70 % der Schnecken. Eine gesteigerte Absterberate gegenüber nichtinfizierten *G. truncatula* konnte nicht beobachtet werden. Ähnliche Ergebnisse wurden nach Einwirkung von Kühlschranktemperaturen (0-4° C) über drei Wochen bzw. Freilandtemperaturen (-2,2-28,1° C) erzielt.

Bei Temperaturen von -5° C bzw. -10° C waren sämtliche Schnecken, auch die nichtinfizierten Kontrollexemplare, bereits nach 8 Tagen abgestorben. Die verschiedenen Stadien der larvalen *F. hepatica*-Infektion zeigten keine zusätzliche Belastung für die Schnecken.

Bei den Untersuchungen über den Einfluß der Infektionsdosis auf *G. truncatula* konnte festgestellt werden, daß bei einem Befall zwischen 1 und 10 Miracidien je Schnecke gegenüber den Kontrollen kein wesentlicher Unterschied in der Absterberate vorhanden war, während einen Befall von 15-20 Miracidien nur wenige Schnecken überlebten und die Eiablage nach erfolgter Infektion einstellten.

Nach massiver Infektion mit Miracidien von *F. hepatica* konnten bei einzelnen *G. truncatula* bis zu 53, durchschnittlich 20 sich entwickelnde Sporozysten zwischen dem 2. und 14. Tag p.i., hauptsächlich im Bereich des Mantels, des perioesophagealen Raumes und der Atemhöhle gefunden werden.

Summary

The influence of different temperatures on the viability of *G. truncatula*, which were infected with four to seven miracidia, was tested under laboratory conditions. The snails were exposed to the test conditions in various stages of development during the infection with larval *F. hepatica* (sporocyst, redia, daughterredia and cercaria).

At temperatures between 18° C and 24° C nearly 70 % of the snails survived.

A higher mortality compared with non-infected *G. truncatula* couldn't be observed.

Similar results were obtained after exposure to refrigerator-temperatures (0° C to 4° C) over three weeks as under field-conditions (-2,2° C to 28,1° C).

At temperatures of -5° C all snails, including the non-infected, died within eight days.

The various stages of development of the infection with larval *F. hepatica* caused no additional stress to the snails.

During the experiments on the influence of the number of miracidia infecting *G. truncatula* no significant difference in relation to the mortality of control-snails and those, which were infected with 1 to 10 miracidia per snail was discovered.

Only an infection with 15 to 20 miracidia per snail showed a significant result, because after the infection the snails stopped egg-laying and only few snails survived.

After a heavy infection with miracidia of *F. hepatica* some *G. truncatula* showed up to 53, in the average 20 developing sporocysts between the 2nd and the 14th day p.i. especially in the region of the mantle, the periesophageal area and the lung.

VI. Literaturverzeichnis

- 1.) BEDNARZ, ST. On the biology and ecology of *Galba truncatula* and cercariae of *Fasciola hepatica* L. in basin of the river Barycz.
Acta parasit. pol. 8, 279-288, 1960
- 2.) BERGHEN, P. Some Lymnaeidae as intermediate hosts of *Fasciola hepatica* in Belgium.
Expl Parasit. 15, 118-124, 1964
- 3.) BOGOMOLOVA, N.A. *Radix ovata* as one of the intermediate hosts of *Fasciola hepatica*.
Zool Zh. 40, 774-775, 1961, ref. *Helminth. Abstr.* 32, 71, 1963
- 4.) BORAY, J.C. The ecology of *Fasciola hepatica* with particular reference to its intermediate host in Australia.
XVII. Welt-Tierärztekongr. Hannover, 14.-21. Aug., 1, 709-715, 1963
- 5.) BORAY, J.C. Studies on the relative susceptibility of some lymnaeids to infections with *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* and on the adaptation of *Fasciola* spp.
Ann. trop. med. Parasit. 60, 114-124, 1966
- 6.) BORAY, J.C. Experimental fascioliasis in Australia.
Adv. Parasit. 7, 95-210, 1969
- 7.) BORAY, J.C., K. ENICK: Laboratory studies on the survival and the infectivity of *Fasciola hepatica* and *gigantica*-metacercariae.
Z. Tropenmed. Parasit. 15, 324-331, 1964
- 8.) CHOWANIEC, W. The influence of environment on the development of the larvae of *Fasciola hepatica*. The problem of superinvasion in the direct host.
Wiad.parazyt. 7, 271-273, 1961
(in Polnisch)

- 9.) CHOWANIEC, W., DROZDZ, L.: Investigations on the biology and ecology of *Galba truncatula* and on the larval forms of *Fasciola hepatica*.
Acta parasit. pol. 7, 143-160, 1959
(in Polnisch)
- 10.) CZAPSKI, Z. The snail *Galba occulta* Jackiewicz, 1959 -
Another intermediate host of *Fasciola hepatica* L.
Z. Tropenmed. Parasit. 13, 332-337, 1962
- 11.) DAWES, B. The penetration of *Fasciola hepatica* in
Limnaea truncatula, and of *F. gigantica*
into *L. auricularia*.
Trans.R.Soc. trop.Med. Hyg.
54, 9-10, 1960
- 12.) ESCUDERO DIEZ, A. Histopatologia y relaciones *Fasciola*
hepatica/*Lymnaea truncatula* y *L. palustris*
en infestacion experimental.
Vet.-med. Diss Leon, 1971
- 13.) ETGES, F.J., GRESSO, W.: Effect of *Schistosoma mansoni*-infection
upon fecundity in *Australorbis glabratus*.
J. Parasit. 51, 757-760, 1965
- 14.) FRÖMMING, E. Lungenschnecken (Pulmonata) Lymnaeidae.
in: Biologie der mitteleuropäischen
Süßwasserschnecken.
Verl. Dunker und Humblot, Berlin, 1956
- 15.) HOHORST, W. Die Biotope der Leberegelschnecke
(*Galba truncatula*) und ihre Besiedlung.
Malacologia 9, 42, 1969
- 16.) HOSIER, D.W., GOODCHILD, CH. G.: Suppressed egg-laying by
snails infected with *Spirorchis scripta*
(Trematoda: Spirorchidae).
J.Parasit. 56, 302-304, 1970
- 17.) HOVORKA, J. Zur Frage der Saisonbedingtheit des
Invasionsprozesses der Fasciolose unter
den Bedingungen der Tschechoslowakei.
Helminthologia 2, 55-61, 1960

- 18.) KAKACHEVA-AVRAMOVA, D.: Survival temperature limits of the metacercariae of *Fasciola hepatica*. Jsv.tsent.Khelmint. Srib. Sof. 7, 51-57, 1962
(in Bulgarisch)
- 19.) KASTAK, V. Die Aufgabe verschiedener Biotopen der Weichtiere bei der Verbreitung der Leberegelkrankheit. Helminthologia 85-99, 1957
(in Tschechisch)
- 20.) KASTAK, V. Korrelationsstudium der Häufigkeit des Auftretens von *Galba truncatula* zur Wasserstoffionenkonzentration (pH) des Wassers in dessen eigenen Biotopen. Helminthologia 2, 62-66, 1960
- 21.) KENDALL, S.B. Bionomics of *Limnaea truncatula* and the parthenitae of *Fasciola hepatica* under drought conditions. J. Helminth. 23, 57-68, 1949 a
- 22.) KENDALL, S.B. Nutritional factors affecting the rate of development of *Fasciola hepatica* in *Limnaea truncatula*. J. Helminth. 23, 179-190, 1949 b
- 23.) KENDALL, S.B. Snail hosts of *Fasciola hepatica* in Britain. J. Helminth. 24, 63-74, 1950
- 24.) KENDALL, S.B. The life-history of *Limnaea truncatula* under laboratory conditions. J. Helminth. 27, 17-28, 1953
- 25.) KENDALL, S.B. Relationship between the species of *Fasciola* and their molluscan hosts. Adv. Parasit. 3, 59-98, 1965
- 26.) KENDALL, S.B., Mc COLLOUGH, F.S.: The emergence of the cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Limnaea truncatula*. J. Helminth. 25, 77-92, 1951

- 27.) KILIAS, R., FRICK, W.: Die Zwischenwirtsschnecken wichtiger einheimischer Haus- und Nutztier-Helminthen.
Angew. Parasit. 4, 65-99, 1963
- 28.) MEHL, S. Die Lebensbedingungen der Leberegel-schnecke (*Galba truncatula* Müller).
in: Arb. bayer. Landesanst. PflBau,
Heft 10, 63-77, 1932
Verl. Datterer u. Cie, Freising-München
- 29.) NEUHAUS, W. Über den chemischen Sinn der Miracidien von *Fasciola hepatica*.
Z. Parasit Kde 15, 476-490, 1953
- 30.) OLLERENSHAW, C.B. The effect of temperature on the development of *Fasciola hepatica* in the intermediate host *Limnaea truncatula* and its influence on the epidemiology of fascioliasis.
Int. Congr. Parasit. (1st), Rome, Sept., 21-26, 1966
- 31.) PANTELOURIS, E.M. The common liver-fluke *Fasciola hepatica* L.
Pergamon Press Ltd. Oxford, 1965
- 32.) REES, G. Some observations and experiments on the biology of larval trematodes.
Parasitology 23, 428-440, 1931
- 33.) ROBERTS, E.W. Studies on the life-cycle of *Fasciola hepatica* (Linnaeus) and of its snail host, *Limnaea* (*Galba*) *truncatula* (Müller), in the field and under controlled conditions in the laboratory.
Ann. trop. med. Parasit. 44, 187-206, 1950
- 34.) ROWAN, W.B. The mode of hatching of the egg of *Fasciola hepatica*.
Expl Parasit. 6, 131-142, 1957

- 35.) STEFANSKI, W. Occurrence and ecology of *Galba truncatula* in Poland.
Wiad. parazyt. 5, 331-334, 1959
- 36.) STIEGLER, L. Untersuchungen über die Zwischenwirts-spezifität von *Fasciola hepatica* L. im Raume Nordbayern.
Z. Parasit Kde 16, 322-350, 1954
- 37.) TAYLOR, E.L. Fascioliasis and the liver-fluke.
FAO Agric. Stud. Nr. 64, 97-98,
Rome, 1964
- 38.) TAYLOR, E.L., MOZLEY, A.: A culture method for *Lymnaea truncatula*.
Nature, Lond. 161, 894, 1948
- 39.) STURROCK, B.M., STURROCK, R.F.: Laboratory studies of the host-parasite relationship of *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata* from St Lucia, West Indies.
Ann. trop. med. Parasit. 64,
357-363, 1970
- 40.) WIKERHAUSER, T., ZUKOWIC, M.: On the host specificity of parthenogenetic stages of *Fasciola hepatica* under laboratory conditions.
Helminthologia 9, 567-571, 1968
- 41.) WILSON, R.A. The hatching mechanism of the egg of *Fasciola hepatica* L.
Parasitology 58, 79-89, 1968
- 42.) WILSON, R.A. Penetration of the miracidium of *Fasciola hepatica* into its intermediate host.
J. Parasit. 56, Sect. II, 484, 1970

Herrn Prof. Dr. F. Hörchner, meinem verehrten Lehrer,
danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und
die große Unterstützung, welche er mir bei der Anfer-
tigung dieser Arbeit gewährt hat. Besonders herzlichen
Dank schulde ich Frau Ipczynski für ihre Hilfe bei den
histologischen Arbeiten und der Anfertigung der Mikro-
photos, sowie den übrigen hilfsbereiten Mitarbeitern
des Instituts.

Lebenslauf

Ich wurde am 17. Februar 1944 als Sohn des Dipl.-Brauerei-Ing. Walter Barrach und seiner Ehefrau Margarete geb. Kohl in Cottbus geboren. Anfang 1945 floh meine Mutter mit mir vor den Kriegseignissen nach Hessen in die Rhön. Mein Vater folgte uns bei Kriegsende dorthin. Mitte 1946 zogen wir nach Berlin-Oberschöneweide, von wo wir nach Beschlagnahme unserer Wohnung 1950 durch die sowjetische Besatzungsmacht in den Westberliner Bezirk Kreuzberg übersiedelten. Von September 1950 besuchte ich dort die 16. Grundschule, die ich Ostern 1954 verließ, um von nun an die Einheitsschule im Bezirk Britz zu besuchen. Diese Oberschule verließ ich nach der 11. Klasse 1963. Im Mai 1965 legte ich die externe Reifeprüfung beim Senator für Schulwesen ab. Im Wintersemester 1965 wurde ich an der Vet.-med. Fakultät der FU Berlin immatrikuliert und erhielt nach bestandenem Staatsexamen im November 1970 meine Approbation als Tierarzt im März 1971.

